

UNIVERSITE MOULOUI-MAAMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE MEDECINE

COURS DE 4^{ÈME} ANNÉE MEDECINE

MODULE DE MICROBIOLOGIE

EXAMEN CYTO-BACTERIOLOGIQUE DES URINES

Mr T.DJERBOUA

Pharmacien maitre assistant en microbiologie ,

Laboratoire central de biologie

UNITE BELLOUA-CHU TIZI-OUZOU

Année universitaire : 2016-2017

plan du cour

1.INTRODUCTION

2.OBJECTIFS PEDAGOGIQUES

3.RAPPELS ANATOMIQUES

***4.GENERALITES SUR LES PATHOLOGIES INFECTIEUSES DE
L'ARBRE URINAIRE***

5.CONDUITE DE L'ECBU

6.BASES DE L'INTERPRETATION DE L'ECBU

7.CONCLUSION

I. INTRODUCTION

L'URINE NORMALE NE CONTIENT PAS DE GERMES CULTIVABLES

LES INFECTION URINAIRES SONT DES PATHOLOGIES TRES FREQUENTES EN PARTICULIER CHEZ LA FEMME ET L'ENFANT
IL EN EXISTE PLUSIEURS TYPES SELON LE(S) ORGANE (S) ATTEINTS , POTENTIELLEMENT GRAVE

L'ECBU EST DE PRATIQUE SIMPLE , S'IMPOSE DE PLUS EN PLUS EN PRATIQUE COURANTE EN RAISON DES DIFFICULTES THERAPEUTIQUES ET DE LA DIFFUSION DES RESISTANCES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES

II. OBJECTIFS PEDAGOGIQUES

A l'issu du cours, l'étudiant sera capable de :

- *Avoir une idée globale sur les principales pathologies infectieuses de l'arbre urinaire
- *Connaitre les principales étiologies agents microbiennes des infections urinaires courantes
- *Connaitre les indications de l'ECBU
- *Maitriser les bonnes pratiques d'exécution du prélèvement et d'acheminement au laboratoire
- *Connaitre les paramètres exultes en matière d'analyses microbiologique des urines
- *SAVOIR INTERPRETER LES RESULTATS DE L'ECBU

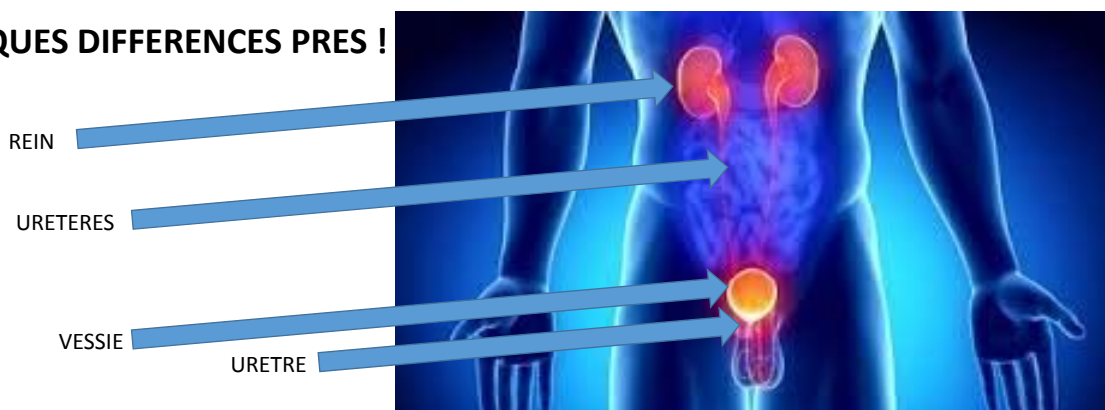
NB : LES PATHOLOGIES SPECIFIQUES COMME LA TUBERCULOSE URO-GENITALE OU L'INFECTION A JC VIRUS NE SERONT PAS ABORDES DANS CE COUR

.

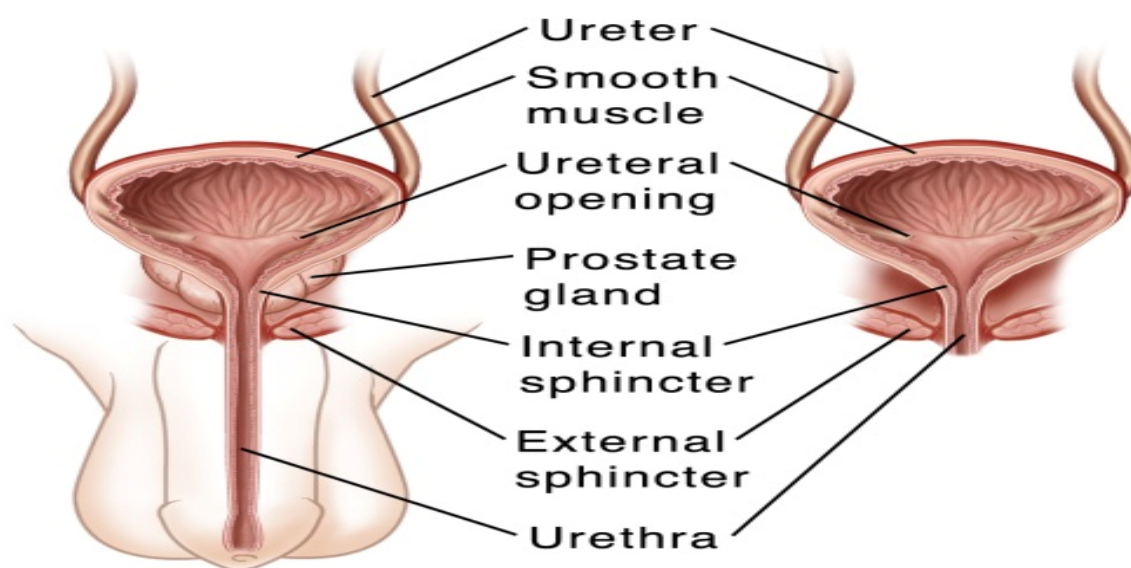
RAPPELS ANATOMIQUES

ARBRE URINAIRE

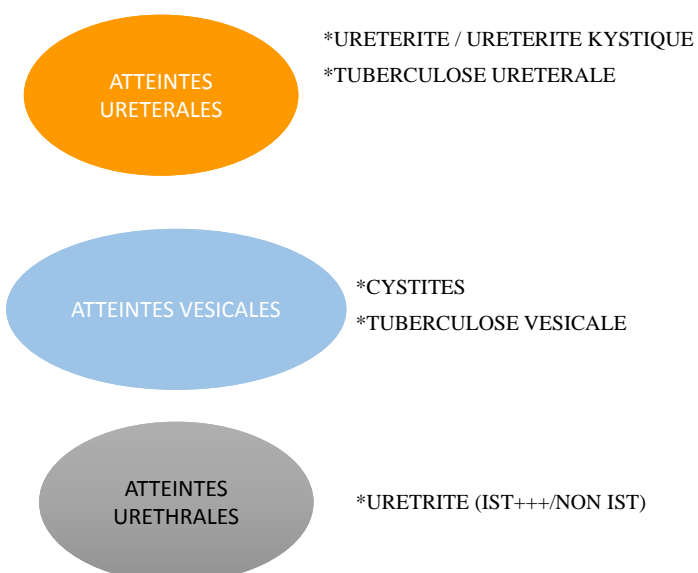
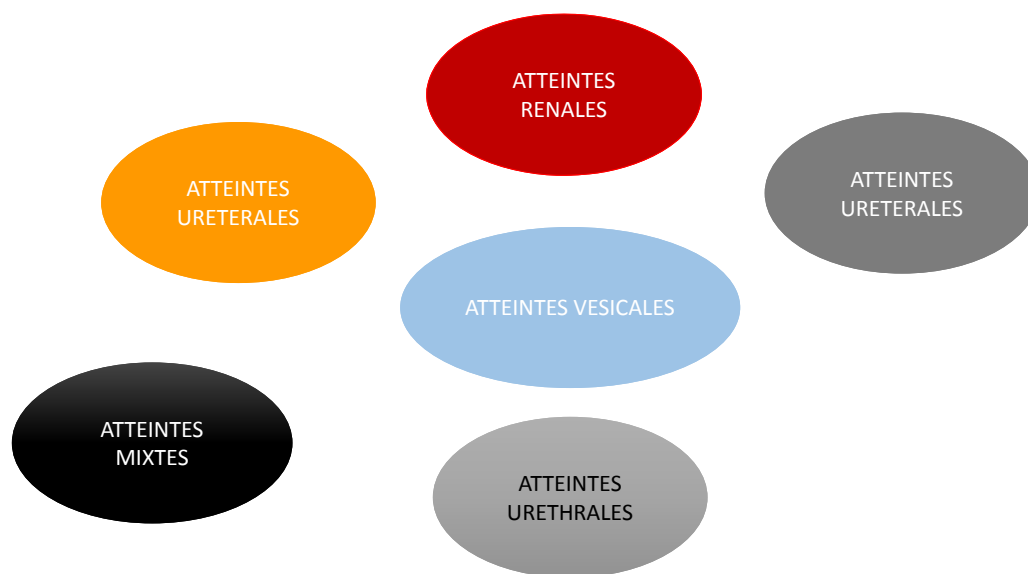
A QUELQUES DIFFERENCES PRES !



RAPPELS ANATOMIQUES



IV. GENERALITES SUR LES PATHOLOGIES INFECTIEUSES DE L'ARBRE URINAIRE



ÉTIOLOGIES BACTÉRIENNES

De nombreux micro-organismes peuvent infecter les voies urinaires mais les agents les plus fréquents sont :

Les BGN qui font partie du tube digestif et sont responsables de plus de 90% des infections urinaires.

Les germes les plus fréquemment en cause sont les Entérobactéries avec en tête :

- * Escherichia coli (60 à 70%)
- * Suivie de Proteus et de
- * Klebsiella

Les cocci à Gram positif sont aussi retrouvés avec cependant une fréquence moins élevée. On distingue :

- * Les staphylocoques non producteurs de coagulase (Staphylococcus Saprophyticus surtout).
- * Le streptocoque du groupe B(femme enceinte)
- * Les Entérocoques commensaux du tube digestif, de la muqueuse urétérale, de la peau. Ils se rencontrent fréquemment comme contaminant.

On peut aussi isoler Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter, Serratia, Candida albicans surtout dans les IUN.

.

II- ECBU

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES

LES INDICATIONS

DIAGNOSTIC	DEPISTAGE
CYSTITE AIGUE +/- FACTEURS DE RISQUE (SIMPLE OU COMPLIQUEE)	GROSSESSE
ASSOCIATION A DE LA FIEVRE/DOULEURS LOMBAIRES (PYELONEPHRITE AIGUE)	CHIRURGIE OU BIOPSIE PROSTATIQUE
DOULEURS PELVIENNES + SIGNES GENERAUX SPROSTATITE CHEZ L'HOMME)	CHIRURGIE UROLOGIQUE OU BILAN URODYNAMIQUE
HYPERTHERMIE ISOLEE +/- DIGESTIFS (NOURISSON ET JEUNE ENFANT)	MISE EN PLACE D'UNE PROTHESE OSTEO-ARTICULAIRE / VALVULAIRE/ENDOVASCULAIRE
ALTERATION DE L'ETAT GENERAL SANS SYMPTOMATOLOGIE URINAIRE AU PREMIER PLAN (sujet âgé)	

Prélèvements :

Sujet adulte coopératif et enfant avec miction volontaire (cas général habituel) : fournir des renseignements précis oralement ou encore mieux sur un document d'information

L'urine peut être recueillie à n'importe quel moment de la journée après au moins 4H sans miction ou **au mieux** lors de la première miction du matin, avant toute antibiothérapie. Après toilette locale (du gland prépuce relevé chez les patients de sexe masculin, du pourtour urinaire, des grandes et petites lèvres chez la femme) avec un antiseptique de type Dakin stabilisé ou plus simplement avec de l'eau savonneuse suivie d'un rinçage à l'eau, la première partie de la miction (environ 20ml) sera rejetée, permettant d'éliminer tout ou partie de la flore commensale de l'urètre antérieur, et seul le milieu du jet (20-30ml) sera recueilli dans un récipient stérile.

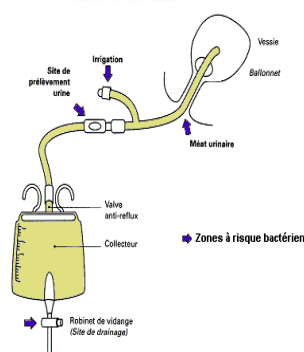
Le prélèvement est effectué en écartant les grandes lèvres chez la femme et le prépuce chez le patient de sexe masculin non circoncis afin d'éviter souillure et contamination.

Chez la femme qui présente des pertes, même minimales, la mise en place d'une protection vaginale est indispensable.



Sujet adulte non coopératif ou incontinent : Le recueil chez la femme sera réalisé par sondage urinaire à l'aide d'une sonde de petit calibre. Cette manœuvre est à éviter chez l'homme car pourvoyeuse de prostatites et on lui préférera le recueil par collecteur pénien, voir par ponction sus-pubienne en cas de rétention d'urine

La ponction sus-pubienne de la vessie est un acte médical nécessitant des conditions d'asepsie optimales. Elle est difficilement utilisable en pratique courante et doit par ailleurs être faite par un praticien entraîné. Après désinfection soigneuse des téguments, ponctionner directement l'urine dans la vessie à l'aide d'une seringue montée.



Chez le petit enfant sans miction volontaire, nourrisson, N/né :

Anciennement les poches urinaires étaient utilisées, actuellement elles ne sont plus recommandées car positives dans plus de 70% des cas. Elles sont réservées aux bandelettes réactives urinaires.

La confirmation de l'infection urinaire chez l'enfant passe soit par le prélèvement à la volée ou par les prélèvements invasifs (sondage / ponction sus-pubienne).



Patient sondé à demeure: Chez le patient porteur de sonde urinaire, il ne faut en aucun prélever dans le sac collecteur ou la pullulation bactérienne est importante mais par ponction directe dans la sonde. Il ne faut pas déconnecter le système de drainage qui doit rester fermé. Le tuyau d'évacuation sera clampé pendant 10 mn afin de laisser l'urine s'accumuler en amont puis l'urine sera ponctionnée via l'opercule spécifique de la sonde après désinfection à l'alcool iodée.

Ce type de prélèvement pratique, ne reflète cependant pas toujours la ou les espèces bactériennes présentes dans la vessie mais plutôt les espèces colonisant la sonde urinaire. C'est pourquoi dans toute la mesure du possible, on privilégiera le prélèvement juste après un changement de sonde .

Urétérostomie (sans sonde) : Après nettoyage soigneux de la stomie on met en place un collecteur stérile et l'on procède comme pour le nourrisson.

Epreuve de MEARS et STAMEY : a pour objectif d'explorer la colonisation bactérienne de la prostate , elle comprend un triple recueil d'urine et un prélèvement des sécrétions prostatiques par massage de la prostate,

Transport et conservation du prélèvement :

Transport au laboratoire en moins de 2H.

Au-delà de ce délai, conservation à 4°C (la réfrigération ne préserve pas les leucocytes).

Un autre moyen permettant d'empêcher toute prolifération bactérienne : agent bactériostatique comme l'acide borique qui permet une conservation des bactéries et des leucocytes a température ambiante pendant 24h

L'acide borique est susceptible de diminuer la sensibilité de la recherche de leucocyte estérase par BU .

EXECUTION DES ANALYSES

MACROSCOPIE

CHIMIE URINAIRE

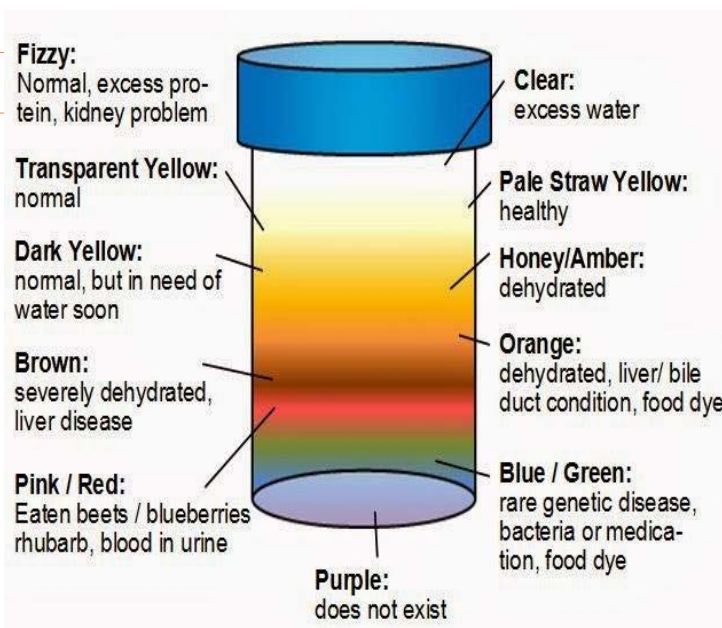
MICROSCOPIE

CULTURE / IDENTIFICATION / TESTS DE
SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

PRINCIPALES ETAPES DE L'ECBU

MACROSCOPIE

- Urines claires.
- Troubles (purulentes)
- sanglantes (hématurie initiale, terminale ou totale)
- Ictérique (jaune brin)
- Rouge, vert (origine alimentaire ou médicamenteuse)
- Présence de dépôt : cristallin, blanchâtre (phosphate), rouge brique (acide urique), rose (Urate de soude)



La BU est recommandée :

- Pour le Dc chez les patientes présentant des signes d'IUS ;
- Pour le dépistage chez la femme enceinte.
- Pour la surveillance d'une IU traitée (avec bonne évolution)
- Chez les patients sous TRT prophylactique .



Eviter le dépistage de l'IU chez les personnes âgées

Le dépistage chez les personnes âgées n'a plus lieu d'exister puisque même colonisés, ces derniers ne constituent pas une indication au traitement antibiotique



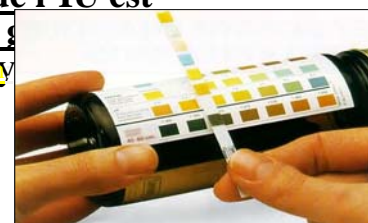
Eviter le « screening » par la BU lorsque la prévalence de l'IU est importante ou lorsque l'IU peut présenter un facteur de

immunodéprimés, greffés, IU chronique, diabétiques avec sy

- de la leucocyturie liée au sondage indépendamment de toute colonisation ou infection.

- de bactériuries à germes dépourvus de nitrate réductase.

et en cas de vessie neurologique en raison de la leucocyturie chronique.



Examen Microscopique à J1

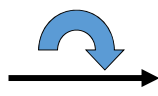


Urine entière



Quantitatif:

Sur urine homogénéisée:
* Numération des leucocytes Hématimètre de Nageotte ou Malassez



Centrifugation

Qualitatif:

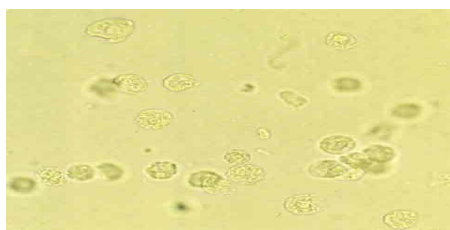
Sur le sédiment :

- frottis coloré au Gram: (observation bactéries)
- frottis coloré au Ziehl Nielsen: (recherche mycobactéries)
- Etat frais :
 - * recherche de cellules (hématies, levures...)
 - * recherche de cristaux.
 - * recherche de cylindres

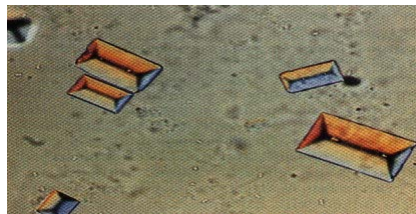
Cylindre leucocytaire



Leucocytes



Cristaux: exemple des oxalate de calcium



Levures



INTERPRETATION DE L'EXAMEN MICROSCOPIQUE

➤ ATTENTION AUX UNITEES !

➤ 10 leucocytes / mm³ = 10⁴ L/ml

➤ 25 L /mm³ = 2.5 x10⁴ L/ml

➤ 100 L / mm³ = 10⁵ L/ml

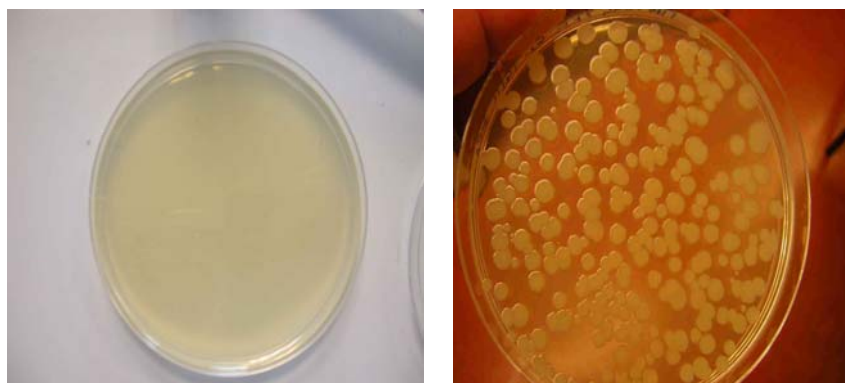
➤ 500 L / mm³ = 5 x 10⁵ L/ ml

• **URINE PATHOLOGIQUE** = Leucocyturie > 10⁴ /ml ou
> à 10 leucocytes / mm³

1 L tous les 1 à 2 champs = 5-10 L /mm³

1 à 2 L/ champ = 10-25 L /mm³

Dénombrement et différenciation des colonies à J2



E-ANTIBIOGRAMME

- ❑ En cas d'urgence médicale on peut réaliser l'ATB le premier jour directement à partir de l'urine.
- ❑ Tester les disques d'ATB selon le spectre de sensibilité probable de la bactérie et la diffusion dans le parenchyme rénal.
- ❑ Les ATB généralement testés sont : Bétalactamines, Aminoglycosides, Fluoroquinolones, quinolones de première génération, Cotrimoxazole, Fosfomysine, Nitrofurantoine Nibiol.....etc
- ❑ Le niveau de résistance aux antibiotiques des germes incriminés est en augmentation.

SENSIBILITE AUX ATB DE E.COLI

Antibiotiques	1989	1998
Amoxicilline	74	<u>53</u>
Amox +acide clavulanique	94	<u>61</u>
Ciprofloxacin	-	97
Cotrimoxazole	90	<u>63</u>
Gentamicine	-	99.5

SENSIBILITE AUX ATB DE E.COLI

Antibiotiques		2014
Amox +acide clavulanique		<u>12%</u>
C3G (enfant)		<u>93%</u>
Ciprofloxacin (adulte)		80%
Cotrimoxazole		<u>63%</u>
Gentamicine		92%

SENSIBILITE AUX ATB DE KLEBSIELLA SPP (9% DE BMR)

Antibiotiques		2014
Amox +acide clavulanique		<u>12%</u>
C3G		<u>81%</u>
Ciprofloxacine		80%
Cotrimoxazole		<u>63%</u>
Gentamicine		89%

Dépistage : Les colonisation nécessitant un Trt ATB:

ECBU systématique: déficience immunitaire, diabète, grossesse, chez les sujets ayant subi ou devant subir des manœuvres instrumentales ou une intervention chirurgicale portant sur l'appareil urogénital.

Egalement avant un geste invasif à visée diagnostique ou thérapeutique (urétéro-cystographie rétrograde, cystoscopie, résection per endoscopique, manœuvre chez un porteur de prothèse...), en préopératoire (urologie, vasculaire, cardiaque, orthopédique).

INTERPRETATION DE L'ECBU

Un groupe de microbiologistes Européens a proposé un classement en catégories des germes retrouvés en culture dans les ECBU en fonction de leur niveau d'implication dans l'étiologie des IU :

➤ Le groupe I :

Les bactéries de ce groupe sont des uropathogènes reconnus même en faible quantité ($\geq 10^3$ UFC/ml : *Escherichia coli*, *Staphylococcus Saprophyticus* (essentiellement chez la femme jeune), *Salmonella* (rare), Mycobactéries (rare)).

➤ Le groupe II :

Ce groupe comprend des bactéries moins fréquemment responsables d'IU. Ces infections sont plus souvent d'origine nosocomiale lorsqu'il existe des facteurs anatomiques ou iatrogènes favorisants. Un taux de 10^4 UFC/ml est proposé pour les bactéries de ce groupe qui comprend :

- Les autres entérobactéries (*Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Enterobacter spp*, *Morganella spp*) ;
- *Enterococcus spp*
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Corynebacterium urealyticum*.
- *Haemophilus spp* (rare).
- *Streptococcus pneumoniae* (rare) :

➤ Le groupe III :

Leur implication en pathologie exige un niveau de bactériurie élevé ($\geq 10^5$ UFC/ml), une répétition de leur isolement sur au moins deux échantillons d'urine et si possible des critères cliniques ou d'inflammation.

- *Streptococcus agalactiae* ;
- *Candida spp* (*Candida albicans*, *Candida glabrata*) ;
- Les staphylocoques à coagulase négative (autre que *S.saprophyticus*) ;
- *Acinetobacter baumannii* ;
- *Stenotrophomonas maltophilia* ;
- *Burkholderia cepacia* ;
- *Oligella urethralis* ;
- *Aerococcus urinae* ;

➤ Le groupe IV :

Ce sont les bactéries de la flore urétrale ou génitale de proximité pour lesquelles l'identification et l'antibiogramme ne doivent pas être réalisés en routine. Ces bactéries sont :

- Streptocoques alpha hémolytiques ;
- *Gardnerella vaginalis* ;
- *Lactobacillus spp* ;
- *Bacillus coryneformes* (à l'exception de *C.urealyticum*) ;

Seul leur isolement à partir d'une ponction sus-pubienne peut permettre d'évoquer leur rôle pathogène.

LEUCOCYTE	BACTERIURIE	INTERPRETATION	CONDUITE
<104	00	ECBU STERILE	AUCUNE
>104	<10 ⁵	TRT ATB GERME EXIGENT(BK) LEUCOCYTES GENITAUX NEPHRITE INTERSTITIELLE CYSTITE VIRALE TUMEUR PROSTATIQUE	REFAIRE ET ADAPTER LA TECHNIQUE.
<104	> 10 ⁵ , 1 TYPE	INFECTION DEBUTANTE INFECTION APLASIQUE CONTAMINATION ID ,AGEE,GROSSESE	IDENTIFICATION + ATB
>104	>10 ⁵ , 1 TYPE	INFECTION TYPIQUE	IDENTIFICATION + ATB
<104	>10 ⁵ , +sieurs type	SOUILLURE	AUCUNE
>104	>10 ⁵ , 2 ou +	INFECTION SUR SONDE ?	A CONTROLER
>104	<10 ⁵ , 2 ou +	I. polymicrobienne?	A refaire

Interprétation des discordances entre leucocyturie et bactériurie :

Contextes cliniques au cours desquels sont observées des discordances entre leucocyturie et bactériurie.

leucocyturie sans bactériurie	bactériurie sans leucocyturie
-Lors d'un traitement antibiotique préalable (infection suspectée).	-Patient neutropénique.
-Lors d'une urétrite, vaginite, de leucorrhées abondantes.	
-En cas d'infection par des bactéries ne donnant pas des cultures sur les milieux standards (mycobactéries, mycoplasmes, gonocoques, anaérobies, microorganismes intracellulaires tels <i>Chlamydia trachomatis</i>).	-Jeune nourrisson.
-Lors d'une maladie systémique fébrile.	-Début d'infection.
-En cas d'urines concentrées par déshydratation.	
-Lors d'une irritation liée à la présence d'un cathéter.	
-En présence de calculs ou de corps étrangers dans les voies urinaires.	-Femme enceinte.
-Au cours d'une appendicite, d'une glomérulonéphrite aigüe ou d'une néphrite interstitielle par antalgiques.	
-En cas de gastroentérite.	
-Lors d'une infection non bactérienne (<i>Candida</i> spp).	

AU TOTAL !

- ❖ L'ECBU est un examen de laboratoire assez fréquemment demandé. il est bien codifié ces deux temps critiques sont :
 - * le prélèvement trop souvent victime de son apparente simplicité.
 - * l'interprétation micro biologique qui doit s'appuyer sur des arguments décisionnels irréprochables
- ❖ Toutes les bactéries peuvent entraîner une infection urinaire mais également les champignons et les virus.

- ❖ Correctement effectué, le dépistage par bandelette a un bon pouvoir prédictif négatif.
- ❖ Un ECBU de contrôle est réalisé après 48 h de traitement ainsi qu'après l'arrêt du TRT.
- ❖ Les infections urinaires sont la principale cause de septicémie à gram négatif, Il ne faut donc pas oublier non plus de pratiquer des hémocultures en cas d'infection urinaire haute ou en cas de fièvre.

• On interprète de la manière suivante :

- * Bactériurie $< 10^3$ UFC /ml : Absence d'infection.
- * Bactériurie $> 10^5$ UFC /ml : Infection urinaire.
- * Bactériurie entre 10^4 et 10^5 : zone douteuse tenir compte d'autres paramètres (examen direct, clinique,, conditions du prélèvement, ECBU précédant ...etc)